



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI *GYNURA PSEUDUCHINA*
DOSIS BERTINGKAT TERHADAP SEBUKAN SEL MONONUKLEAR
DI SEKITAR JARINGAN ADENOKARSINOMA MAMMA MENCIT *C3H***

ARTIKEL ILMIAH

**Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menempuh program pendidikan
sarjana Fakultas Kedokteran**

Disusun oleh :

LATIFAH EVI NURLAELI

G2A002098

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2006

HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui oleh dosen pembimbing dan dosen penguji, Proposal Penelitian Karya Tulis Ilmiah dari :

Nama : Latifah Evi Nurlaeli

NIM : G2A002098

Tingkat : Program Pendidikan Sarjana

Fakultas : Kedokteran Umum

Universitas : Universitas Diponegoro

Bagian : Histologi

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI *GYNURA*
PSEUDOCHINA DOSIS BERTINGKAT TERHADAP SEBUKAN SEL
MONONUKLEAR DI SEKITAR JARINGAN ADENOKARSINOMA
MAMMA MENCIT *C3H***

Dosen Pembimbing : dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes.

Semarang, Maret 2006

Mengetahui,

Dosen Penguji

Dosen Pembimbing

dr. Udadi Sadhana, M.Kes.

NIP. 131 967 650

dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes.

NIP. 131 916 037

**The Influence of Administration of *Gynura pseudochina*'s Tuber Extract
with Stratified Doses on the Number of Infiltrating Mononuclear Cells
Around the Adenocarcinoma Mammae Strain *C3H* Mice**

Latifah Evi Nurlaeli*, Ratna Damma Purnawati**

ABSTRAC

Background : *Gynura pseudochina* (GP)'s tuber is used as herbal medicine for treating cancer. Flavonoid, an active substance on its, can stimulate the activity of IL-2 and lymphocyte proliferation. The infiltrating mononuclear cells around the cancer's cells are an indicator for good prognosis because the growth of cancer

will decreased. The objective of this study is to observe the effect of GP's tuber extract on the amount of infiltrating mononuclear cells around the adenocarcinoma mammae of C3H mice.

Methods : An experimental study using post test only control group design. The sample were 20 female C3H mice, divided into 4 groups. They were group K (just has inoculated with cancer cells) , groups P1, P2 and P3(has inoculated with cancer, then has given with GP tuber extract with doses P1 0,12 mg/day, P2 0,25 mg/day, P3 0,50 mg/day) .

Result : The number of infiltrating mononuclear cells around the adenocarcinoma mammae C3H mice increased on group P compared with group K ($p=0,001$). The comparison between group P2 and K, $p=0,008$; P3 and K, $p=0,008$; P1 and P3, $p=0,008$. The comparison between group P1 and K, $p=0,033$; P1 and P2, $p=0,041$; P2 and P3, $p=0,014$.

Conclusion : The administration of GP's tuber extract has an effect in increasing the number of infiltrating mononuclear cells around the adenocarcinoma mammae of C3H mice. The increasing of this infiltrating mononuclear cells was proportional with the increasing of GP's tuber extract dose.

Key words : GP's tuber, mononuclear cells, adenocarcinoma mammae.

* Undergraduated student of Medical Faculty In Diponegoro University

**Histology Lecturer of Medical Faculty In Diponegoro University

Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi *Gynura pseudochina* Dosis Bertingkat Terhadap Sebaran Sel Mononuklear

di Sekitar Jaringan Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H

Latifah Evi Nurlaeli *, Ratna Damma Purnawati**

ABSTRAK

Latar Belakang : Umbi *Gynura pseudochina* (GP) merupakan bahan herbal sebagai antikanker. Senyawa *flavonoid* yang dikandungnya dapat meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Infiltrat sel mononuklear di sekitar sel kanker merupakan indikator prognosis yang baik karena kecepatan pertumbuhan kanker akan menurun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi GP terhadap sebaran sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit C3H.

Metoda : Penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Sampel 20 ekor mencit C3H betina, dibagi 4 kelompok. Kelompok K (hanya diinokulasi sel adenokarsinoma mamma), kelompok P1, P2, P3 (diinokulasi sel adenokarsinoma mamma setelah timbul benjolan diberi ekstrak umbi GP, dosis P1 0,12 mg/hari, P2 0,25 mg/hari, P3 0,50 mg/hari).

Hasil : Ada peningkatan sebaran sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit C3H pada kelompok P dibandingkan K ($p=0,001$). Perbandingan antara kelompok P2 dan K, $p=0,008$; P3 dan K, $p=0,008$; P1 dan P3, $p=0,008$. Perbandingan antara kelompok P1 dan K, $p=0,033$; P1 dan P2, $p=0,041$; P2 dan P3, $p=0,014$.

Kesimpulan : Pemberian ekstrak umbi GP berpengaruh meningkatkan sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit *C3H*. Sebukan sel mononuklear tersebut meningkat jumlahnya sesuai dengan peningkatan dosis.

Kata Kunci : Umbi GP, sebukan sel mononuklear, adenokarsinoma mamma.

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

**Staf Pengajar Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan salah satu keganasan yang sering ditemukan pada wanita di dunia. Menurut survei, setiap 3 menit pada seorang wanita ditemukan kanker payudara dan pada setiap 11 menit seorang wanita meninggal karena kanker tersebut, sehingga kanker payudara dijuluki sebagai “pembunuh utama” diantara jenis kanker pada wanita.¹ Dari data registrasi kanker di Indonesia, kanker payudara menempati peringkat tertinggi kedua setelah kanker mulut rahim.^{2,3} Di Semarang, kanker payudara menduduki tempat kedua sebanyak 12,16 % tiap tahun.³

Saat ini di masyarakat sedang marak berbagai pengobatan alternatif untuk terapi kanker, salah satunya adalah pengobatan tradisional menggunakan herbal. *Gynura pseudochina* (GP) atau daun dewa merupakan salah satu tanaman obat multikhasiat yang digunakan sebagai antikanker.⁴ Bagian dari tanaman yang sering digunakan untuk pengobatan adalah daun dan umbinya. Khasiat dan kandungan bahan aktif yang lebih tinggi terdapat pada umbinya.⁵ Kandungan kimia umbi GP yang diketahui yaitu saponin, minyak atsiri dan flavonoid.⁶ Pada penelitian terhadap mencit putih galur DDY (*Deutsch Democratic Yokohama*) jantan, perasan tanaman ini memiliki efek meningkatkan respon imun yang ditandai dengan peningkatan titer antibodi.⁷ Penelitian lain juga

membuktikan bahwa senyawa flavonoid dapat meningkatkan aktivitas IL-2 dan meningkatkan proliferasi limfosit.⁸

Peningkatan proliferasi dan aktivasi limfosit dapat menghambat pertumbuhan sel kanker secara langsung dan meningkatkan produksi sitokin. Sitokin yang dihasilkan tersebut akan menginduksi sel leukosit mononuklear lain yang berperan dalam mekanisme antitumor. Studi histopatologi menunjukkan bahwa banyak tumor yang dikelilingi oleh infiltrat sel mononuklear yang terdiri dari sel limfosit T, sel NK (*Natural Killer*) dan makrofag. Adanya infiltrat sel mononuklear ini merupakan indikator untuk prognosis yang baik pada beberapa tipe melanoma dan kanker payudara karena kecepatan pertumbuhan kanker akan menurun. Sel-sel imun tersebut terbukti dapat membunuh sel kanker di sekelilingnya.⁹

Berdasarkan teori-teori diatas maka rumusan masalah yang muncul adalah apakah ekstrak umbi GP dapat meningkatkan sekuman sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit *C3H*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi GP terhadap sekuman sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit *C3H*.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak umbi GP terhadap sekuman sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit *C3H* pada berbagai tingkatan dosis. Selain itu juga dapat memberikan informasi mengenai kegunaan umbi GP sebagai salah satu alternatif terapi kanker payudara disamping penggunaan daunnya saja, dan sebagai sumber acuan untuk penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Histologi, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Disiplin ilmu yang terkait : Imunologi, Histologi, Patologi anatomi, dan Farmakologi. Waktu yang diperlukan selama 6 (enam) bulan mulai dari penyusunan proposal sampai penelitian

selesai.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan pendekatan *The post test only control group design*. Sampel penelitian adalah mencit strain *C3H* yang diambil dari populasi dan memenuhi syarat inklusi yaitu mencit *C3H* betina, umur 6 bulan, sehat, dan berat \pm 30 gram. Sampel diperoleh dari Laboratorium MIPA Universitas Negeri Semarang dan diambil secara acak. Penentuan besar sampel yaitu jumlah sampel 5 ekor per kelompok. Jumlah kelompok dalam penelitian ini adalah 4 kelompok, sehingga jumlah total sampel sebanyak 20 ekor mencit *C3H*.

Umbi GP yang digunakan pada perlakuan diperoleh dari toko tanaman obat “Merapi Farma” di jalan Kaliurang, Yogyakarta. Umbi ini akan keluar setelah tanaman berumur 6 bulan dan tanaman ini tumbuh baik pada kelembaban udara yang relatif cukup tinggi dan terkena sinar matahari langsung. Proses pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang. **(Lampiran 1).**

Perhitungan dosis berasal dari dosis umbi GP yang dianjurkan pada manusia yaitu 6-9 gram umbi segar.^{4,6} Dosis tersebut kemudian dikonversikan ke dosis mencit dengan faktor konversi menurut Laurence dan Bacharach. Umbi GP disiapkan dalam 3 besaran dosis kelipatan 2 untuk tiap kelompok, yaitu 10; 20; 40 mg. Hasil ekstrak 1 Kg umbi GP sebesar 12,3 gram, sehingga didapatkan hasil konversi dosis untuk mencit 0,12 mg; 0,25 mg; 0,50 mg **(Lampiran 2).**

Sebelum mendapat perlakuan, 20 ekor mencit betina strain *C3H* yang dipakai diadaptasikan selama 1 minggu. Tiap kelompok dikandangkan secara individual dan mendapatkan pakan standard dan minum secara *ad libitum*.

Pembagian kelompok perlakuan :

Kelompok I (K) : diinokulasi sel kanker, setelah timbul benjolan kemudian disonde dengan aquades.

Kelompok II (P1) : diinokulasi dengan sel kanker, setelah timbul benjolan kemudian diberi ekstrak umbi GP dengan dosis 0,12 mg/hari selama 4 (empat) minggu.

- Kelompok III (P2) : diinokulasi dengan sel kanker, setelah timbul benjolan kemudian diberi ekstrak umbi GP dengan dosis 0,25 mg/hari selama 4 (empat) minggu.
- Kelompok IV (P3) : diinokulasi dengan sel kanker, setelah timbul benjolan kemudian diberi ekstrak umbi GP dengan dosis 0,50 mg/hari selama 4 (empat) minggu.

Setelah perlakuan selesai mencit diterminasi dengan cara dislokasi tulang leher. Jaringan kanker diambil, kemudian dimasukkan dalam botol berisi buffer formalin 10 %. Setelah itu, didehidrasi dengan alkohol konsentrasi bertingkat, lalu dibuat blok parafin sesuai standar baku Histologi. Blok parafin ini kemudian dipotong dengan mikrotom dan dibuat preparat pada *object glass* selanjutnya diwarnai dengan *Hematoksin Eosin*. Masing-masing dibuat 1 preparat untuk setiap mencit pada setiap kelompok.

Preparat yang sudah jadi dibaca hasilnya dengan mikroskop cahaya. Pembacaan dan penilaian jumlah sebukan sel mononuklear dilakukan dua kali pada 5 lapangan pandang (4 di sudut dan 1 di tengah) dengan pembesaran 400x untuk tiap preparat. Kemudian jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan kanker dinilai dengan sistem skor menurut Sarjadi.¹⁰

Sebukan sel mononuklear	Skor
a. Dianggap negatif (0-5 sel)	0
b. Sedikit (sampai dengan $\frac{1}{4}$ lapangan pandang)	1
c. Sedang ($\frac{1}{4}$ sampai dengan $\frac{1}{2}$ lapangan pandang)	2
d. Banyak (lebih dari $\frac{1}{2}$ lapangan pandang)	3

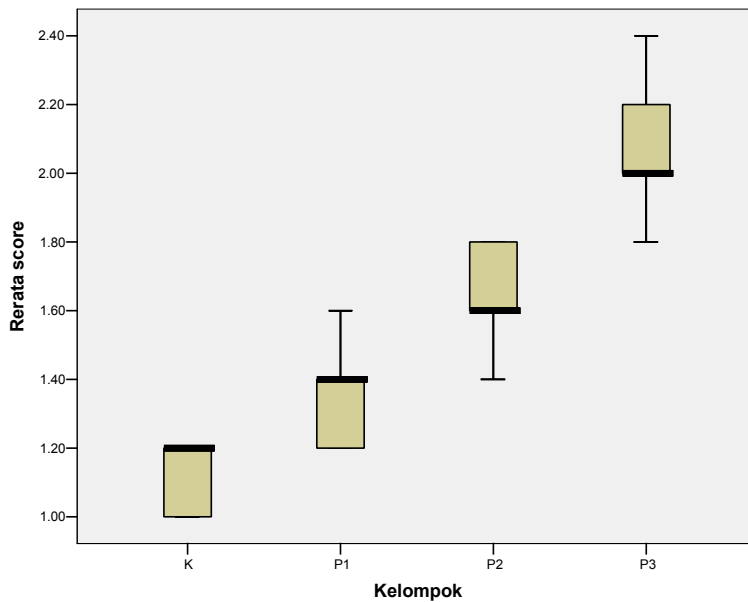
Data yang diperoleh dari 4 kelompok sampel diolah dengan program komputer SPSS 13.0 dengan taraf signifikansi jika $p < 0,01$, maka ada perbedaan yang bermakna.

HASIL PENELITIAN

Hasil pembacaan jumlah sebukan sel mononuklear untuk setiap sampel pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Rerata skor sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit *C3H*

No	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
1.	1,00	1,20	1,60	1,80
2.	1,20	1,40	1,80	2,40
3.	1,20	1,60	1,80	2,00
4.	1,00	1,20	1,40	2,20
5.	1,20	1,40	1,60	2,00
Mean	1,12	1,36	1,64	2,08
SD	0,11	0,17	0,17	0,23



Gambar 1. Grafik box plot skor sebulan sel mononuklear

Data tersebut diatas kemudian dianalisis dengan uji statistik nonparametrik *Kruskal Wallis* dan didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol ($p=0,001$). Karena dengan uji *Kruskal Wallis* menghasilkan perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk melihat perbandingan penilaian sebulan sel mononuklear antarkelompok, yaitu antara kelompok kontrol dan perlakuan, dan antara masing-masing kelompok perlakuan.

Berikut adalah hasil perhitungan uji statistik *Mann Whitney* :

Tabel 2. Hasil uji signifikansi antarkelompok dengan uji *Mann Whitney*

Kelompok	P 1	P 2	P 3
K	0,033	0,008*	0,008*
P 1	-	0,041	0,008*
P 2		-	0,014

* $p < 0,01$

Hasil uji signifikansi *Mann Whitney* antara kelompok P1 dengan kelompok K ($p=0,033$), kelompok P1 dengan P2 ($p=0,041$) dan antara kelompok P2 dengan P3 ($p=0,014$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p<0,01$). Hasil uji signifikansi antara kelompok P2 dengan K ($p=0,008$), kelompok P3 dengan K ($p=0,008$) dan antara kelompok P1 dengan P3 ($p=0,008$) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p<0,01$).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, terdapat peningkatan sebukan sel mononuklear disekitar jaringan adenokarsinoma mamma antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Secara statistik didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok P2 dan P3 dengan kelompok K. Sedangkan hasil uji statistik antara kelompok P1 dengan K menunjukkan peningkatan sebukan sel mononuklear tidak bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak umbi GP berpengaruh dalam meningkatkan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit *C3H*. Peningkatan ini disebabkan oleh terstimulasinya sistem imun oleh sel kanker yang dikenal sebagai benda asing oleh tubuh. Fungsi sistem imun dalam hal ini adalah fungsi protektif dengan mengenal dan menghancurkan sel – sel abnormal itu sebelum berkembang menjadi tumor atau membunuhnya kalau tumor itu sudah tumbuh. Jadi di sini sistem imun berperan sebagai *immune surveillance*.^{9,11}

Imunitas seluler lebih banyak berperan daripada imunitas humoral dalam proses penghancuran sel kanker. Sel kanker dapat menstimulasi respon imun dengan membentuk infiltrat sel mononuklear di sekitar jaringan kanker. Infiltrat sel mononuklear yang berperan dalam melawan sel kanker antara lain sel limfosit (terutama sel T sitotoksik), sel *Natural Killer* (NK), dan makrofag.^{9,11,12} Sel T sitotoksik memiliki peran utama dalam mekanisme pertahanan tubuh melawan tumor.¹² Sel NK juga ternyata paling berperan dalam *immunosurveillance* tumor, ia dapat membunuh sel tumor secara langsung tanpa perlu disensitisasi terlebih dahulu.^{12,13} Dalam *immunosurveillance* dianggap ada keadaan imunosupresi yang menyertai tumbuhnya tumor, terutama depresi sel NK.¹³

Pemberian umbi GP yang mengandung flavonoid akan meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit yang berarti akan meningkatkan sistem imun. Sitokin yang dihasilkan oleh aktivasi limfosit antara lain IL-2, TNF- α , dan IFN- γ yang akan menginduksi sel mononuklear lain yang berperan dalam melawan sel kanker seperti sel NK dan makrofag. Sitokin tersebut juga akan memacu sel-T sitotoksik (CTLs) untuk berinteraksi dengan sel kanker, sehingga menyebabkan destruksi sel kanker secara langsung dengan menghasilkan perforin yang akan melubangi membran sel kanker sehingga sel kanker mati.^{9,13}

Sel NK adalah limfosit sitotoksik yang mengenal sel sasaran yang tidak antigen spesifik dan juga tidak MHC dependen.¹⁴ Sel tumor yang tidak mengekspresikan MHC yang biasanya terhindar dari lisis oleh sel Tc justru merupakan sasaran yang baik untuk dilisis oleh sel NK. Kemampuan sitolitik sel NK diinduksi oleh faktor sitotoksik dan penggunaan perforin dalam melubangi membran sel target. Aktivitas sel NK ini ditingkatkan oleh IL-2, IFN, dan respon imun sel T.^{9,11} Sel T dan sel NK bekerjasama dengan makrofag pada mekanisme antitumor karena adanya IFN- γ , sitokin yang diproduksi oleh sel T dan sel NK yang merupakan aktivator yang potensial untuk makrofag.¹² Makrofag juga melepas TNF- α yang mengawali apoptosis dan dapat memakan serta mencerna sel kanker. Sel-sel mononuklear tersebut (limfosit, sel NK, dan makrofag) dapat dilihat sebagai sel-sel yang menginfiltrasi jaringan adenokarsinoma mamma.^{9,11}

Pada kelompok perlakuan didapatkan peningkatan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan

adenokarsinoma mamma sesuai dengan peningkatan dosis. Uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna antara P1 dengan P3, $p=0,008$ ($p<0,01$). Sedangkan antara P1 dengan P2 ($p=0,041$) dan P2 dengan P3 ($0,014$) menunjukkan adanya perbedaan tidak bermakna. Hal ini berhubungan dengan mekanisme kerja obat dimana efek obat umumnya timbul karena interaksi obat dengan reseptor pada sel suatu organisme. Intensitas efek obat berbanding lurus dengan fraksi reseptor yang diikatnya, dan intensitas efek mencapai maksimal bila seluruh reseptor diduduki oleh obat. Hubungan dosis dengan intensitas efek obat berkaitan dengan potensi obat yang menunjukkan rentang dosis obat yang menimbulkan efek. Besarnya potensi ini ditentukan oleh kadar obat yang mencapai reseptor dan afinitas obat terhadap reseptornya. Tetapi efek maksimal obat tidak selalu berhubungan dengan potensinya. Besarnya respon terhadap dosis juga sangat tergantung dari variasi biologik.¹⁵

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit *C3H* pada kelompok yang diberi ekstrak umbi *Gynura pseudochina* bila dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi ekstrak. Sebukan sel mononuklear tersebut meningkat jumlahnya sesuai dengan peningkatan dosis.

SARAN

1. Melakukan uji toksisitas dan menentukan LD-50 dari umbi *Gynura pseudochina*
2. Penelitian lebih lanjut untuk melihat ekspresi perforin dari sel mononuklear yang paling meningkat aktivitasnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah azza wa jalla, segala puji hanya bagi-Mu.

2. Kepala Bagian beserta seluruh staf Bagian Histologi dan Laboratorium Patologi Anatomi FK UNDIP.
3. Dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes selaku dosen pembimbing, Dr. Neni Susilaningsih, M.Si dan Dr. Udadi Sadhana, M. Kes yang telah membimbing dan membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan KTI ini.
4. Dra. Meyni Suzeri, MA dan Drs. Bambang Cahyono, PhD Staf Pengajar Fakultas MIPA UNDIP atas pembuatan ekstrak umbi *Gynura pseudochina*.
5. Dra. Harnina, Kepala Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang atas bantuannya dalam menyediakan mencit *C3H*.
6. Rekan-rekan satu kelompok penelitian, rekan-rekan satu dosen wali, keluargaku tercinta dan semua pihak atas dukungan, kerjasama, dan bantuannya dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan KTI ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Turana Y, Danandjaja S, Swantari NM, Arimurti VD, Kusmardi, Pringgoutomo S. Pengaruh perasan daun ngokilo (*Gynura procumbens* Lour. Merr) terhadap pertumbuhan sel adenokarsinoma mammae mencit galur Gr. Majalah Kedokteran Indonesia 2002; 52: 43-46.
2. Sarjadi, Trihartini P. Cancer registration in Indonesia. Asian Pasific Journal of Cancer Prevention. IACR Supplement 2001; 2: 21-24.
3. Sarjadi, Padmi T, Pawitra I. Insiden kanker penduduk Semarang tahun 1990 – 1999. Media Medika Indonesia 2001; 36:15-21.
4. Winarto WP. Daun dewa: budi daya dan pemanfaatan untuk obat. Jakarta: Penebar Swadaya, 2003: 1-10.
5. Kardinan A, Taryono. Tanaman obat penggempur kanker. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2004: 47.
6. Anonim. Daun dewa. Available from: URL:[http:// www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=34](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=34). Diakses 12 Juli 2005.
7. Hargono D, Winarno MW, Werawati A. Pengaruh perasan daun ngokilo (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr) terhadap aktivitas sistem imun mencit putih. Cermin Dunia Kedokteran 2000; 127: 22-29.

8. Jiao Y, Wen J, Yun. Influence of flavonoid of *Astragalus membranaceus*'s stem and leaves on the function of cell mediated immunity in mice. Heilongjiang University [on line]: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Accessed Juny 20, 2005.
9. Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and molecular immunology, fifth edition, updated edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005: 391-10.
10. Sarjadi. Karsinoma epidermoid serviks uterus (Beberapa aspek epidemiologi serta peran histopatologi dan pertanda tumor dalam penentuan prognosis). Disertasi Doctor. Semarang : Universitas Diponegoro, 1985: 30.
11. Kresno SB. Imunologi: Diagnosis dan prosedur laboratorium, edisi keempat. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2001: 208-28.
12. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, Abbas AK, Fausto. Pathologic basic of disease. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005: 328-32.
13. Halim B, Sahil F. Imunologi kanker. Cermin Dunia Kedokteran 2001; 132: 47-51.
14. Baratawidjaja K. Imunologi dasar, Ed 6. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2004: 363-73.
15. Ganiswara SG. Farmakologi dan terapi, edisi 4 cetak ulang 2003. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2003: 10-16.